



별첨 사본은 아래 출원의 원본과 동일함을 증명함.

This is to certify that the following application annexed hereto is a true copy from the records of the Korean Intellectual Property Office.

출원 번호 : 10-2003-0045522
Application Number

REC'D 19 JUL 2004

WIPO

PCT

출원 년 월 일 : 2003년 07월 05일
Date of Application JUL 05, 2003

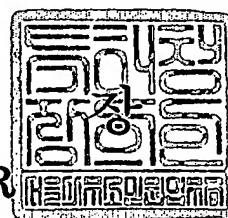
출원인 : 학교법인 포항공과대학교
Applicant(s) POSTECH FOUNDATION



2004 년 03 월 23 일

특 허 청

COMMISSIONER



PRIORITY DOCUMENT
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH
RULE 17.1(a) OR (b)

	【서지사항】	
【서류명】	서지사항	보정서
【수신처】	특허청장	
【제출일자】	2003.07.21	
【제출인】		
【명칭】	학교법인	포항공과대학교
【출원인코드】	2-1999-900096-8	
【사건과의 관계】	출원인	
【대리인】		
【성명】	이영필	
【대리인코드】	9-1998-000334-6	
【포괄위임등록번호】	1999-050323-2	
【대리인】		
【성명】	이해영	
【대리인코드】	9-1999-000227-4	
【포괄위임등록번호】	2000-006267-7	
【사건의 표시】		
【출원번호】	10-2003-0045522	
【출원일자】	2003.07.05	
【심사청구일자】	2003.07.05	
【발명의 명칭】	로텍산 호합물이 공유결합된 고체 기판 및 이를 이 용한 바이 오칩	
【제출원인】		
【접수번호】	1-1-2003-0245563-13	
【접수일자】	2003.07.05	
【보정할 서류】	특허출원서	
【보정할 사항】		
【보정대상항목】	발명자	
【보정방법】	정정	
【보정내용】		
【발명자】		
【성명의 국문표기】	김기문	
【성명의 영문표기】	KIM,Kimoon	
【주민등록번호】	540629-1018714	

【우편번호】	790-330
【주소】	경상북도 포항시 남구 효자동 산31번지 포항공과대학교 화학과
【국적】	KR
【발명자】	
【성명의 국문표기】	강진구
【성명의 영문표기】	KANG, Jin-Koo
【주민등록번호】	750104-1046318
【우편번호】	790-784
【주소】	경상북도 포항시 남구 효자동 포항공과대학교 화학과
【국적】	KR
【발명자】	
【성명의 국문표기】	전우성
【성명의 영문표기】	JEON, Woo-Seong
【주민등록번호】	690429-1690529
【우편번호】	790-784
【주소】	경상북도 포항시 남구 효자동 포항공과대학교 지능초분자연 구단
【국적】	KR
【발명자】	
【성명의 국문표기】	노미란
【성명의 영문표기】	NOH, Miran
【주민등록번호】	770522-2100613
【우편번호】	790-784
【주소】	경상북도 포항시 남구 효자동 포항공과대학교 화학과
【국적】	KR
【발명자】	
【성명의 국문표기】	김동우
【성명의 영문표기】	KIM, Dongwoo
【주민등록번호】	771111-1352018
【우편번호】	790-784

1020030045522

출력 일자: 2004/3/24

【주소】

경상북도 포항시 남구 효자동 포항공과대학교 화학
과

【국적】

KR

【취지】

특허법시행규칙 제13조·실용신안법시행규칙 제8조의 규
정에 의하여 위와 같 이 제출합니다. 대리인
이영필 (인) 대리인
이해영 (인)

【수수료】

【보정료】

0 원

【기타 수수료】

원

【합계】

0 원

【서지사항】

【서류명】	특허출원서
【권리구분】	특허
【수신처】	특허청장
【참조번호】	0002
【제출일자】	2003.07.05
【국제특허분류】	A23C
【발명의 명칭】	로텍산 화합물이 공유결합된 고체 기판 및 이를 이용한 바이오 칩
【발명의 영문명칭】	Solid substrate covalently bonded with rotaxane compound and biochip using the same
【출원인】	
【명칭】	학교법인 포항공과대학교
【출원인코드】	2-1999-900096-8
【대리인】	
【성명】	이영필
【대리인코드】	9-1998-000334-6
【포괄위임등록번호】	1999-050323-2
【대리인】	
【성명】	이해영
【대리인코드】	9-1999-000227-4
【포괄위임등록번호】	2000-006267-7
【발명자】	
【성명의 국문표기】	김기문
【성명의 영문표기】	KIM, Kimoon
【주민등록번호】	540629-1018714
【우편번호】	790-330
【주소】	경상북도 포항시 남구 효자동 포항공과대학교 화학과
【국적】	KR
【발명자】	
【성명의 국문표기】	강진구
【성명의 영문표기】	KANG, Jin-Koo
【주민등록번호】	750104-1046318

【우편번호】	790-784
【주소】	경상북도 포항시 남구 효자동 포항공과대학교 화학과
【국적】	KR
【발명자】	
【성명의 국문표기】	전우성
【성명의 영문표기】	JEON, Woo Seong
【주민등록번호】	690429-1690529
【우편번호】	790-330
【주소】	경상북도 포항시 남구 효자동 산31번지 포항공과대학교 지능초 분자연 구단
【국적】	KR
【발명자】	
【성명의 국문표기】	전우성
【성명의 영문표기】	JEON, Woo-Seong
【주민등록번호】	690429-1690529
【우편번호】	790-784
【주소】	경상북도 포항시 남구 효자동 포항공과대학교 지능초분자연구단
【국적】	KR
【발명자】	
【성명의 국문표기】	노미란
【성명의 영문표기】	NOH, Miran
【주민등록번호】	770522-2100613
【우편번호】	790-784
【주소】	경상북도 포항시 남구 효자동 포항공과대학교 화학과
【국적】	KR
【발명자】	
【성명의 국문표기】	김동우
【성명의 영문표기】	KIM, Dongwoo
【주민등록번호】	771111-1352018
【우편번호】	790-784
【주소】	경상북도 포항시 남구 효자동 포항공과대학교 화학과
【국적】	KR
【심사청구】	청구

【취지】

특허법 제42조의 규정에 의한 출원, 특허법 제60조의 규정에 의한 출원심사를 청구합니다. 대리인

이영필 (인) 대리인

이해영 (인)

【수수료】

【기본출원료】 20 면 29,000 원

【가산출원료】 13 면 13,000 원

【우선권주장료】 0 건 0 원

【심사청구료】 9 항 397,000 원

【합계】 439,000 원

【감면사유】 학교

【감면후 수수료】 219,500 원

【첨부서류】

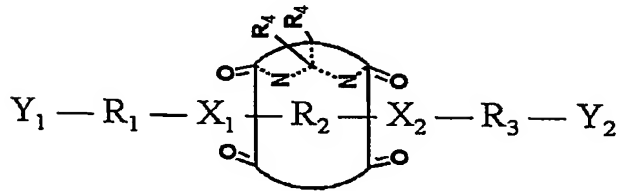
1. 요약서·명세서(도면)_1통

【요약서】

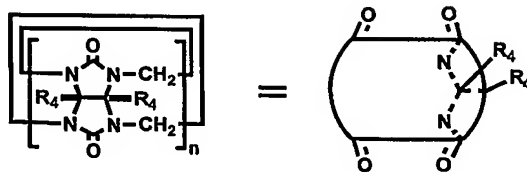
【요약】

본 발명은 하기 화학식 2의 쿠커비투릴 또는 그 유도체의 내부 공동(cavity)에 하기 화학식 3의 화합물이 수직으로 관통된 하기 화학식 1의 화합물, 이 화합물이 공유결합된 고체 기판, 이 고체 기판을 포함하는 바이오칩을 제공한다.

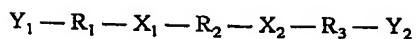
[화학식 1]



[화학식 2]



[화학식 3]



(상기 화학식에서, R_1 , R_2 , R_3 , X_1 , X_2 , Y_1 , 및 Y_2 는 명세서에서 정의된 바와 같다)

【대표도】

도 1

【명세서】

【발명의 명칭】

로텍산 화합물이 공유결합된 고체 기판 및 이를 이용한 바이오칩{Solid substrate covalently bonded with rotaxane compound and biochip using the same}

【도면의 간단한 설명】

도 1은 쿠커비투릴 또는 그 유도체의 내부 공동에 긴 사슬형 화합물이 수직으로 관통된 로텍산 화합물이 고체 기판 상에 접합층을 이루면 접합층을 구성하는 분자 사이의 간격이 쿠커비투릴 또는 그 유도체의 크기에 상응하는 특정한 간격으로 배열될 수 있는 원리를 도식적으로 표현한 것이다.

<도면 부호의 설명>

- 1: 고체 기판
- 2: 접합층
- 3: 감지층
- 4: 쿠커비투릴

【발명의 상세한 설명】

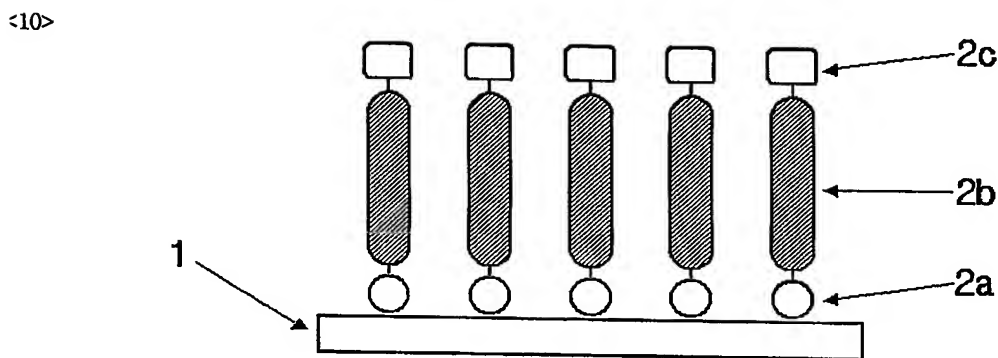
【발명의 목적】

【발명이 속하는 기술분야 및 그 분야의 종래기술】

<7> 본 발명은 바이오칩을 제조하기 위한 고체 기판에 소정의 작용기를 일정한 간격으로 배열한 고체 기판, 이를 이용한 바이오칩에 관한 것으로서, 보다 구체적으로는 로텍산 화합물, 이를 공유결합시킨 고체 기판, 이 고체 기판을 채택하여 얻어지는 바이오칩에 관한 것이다.

<8> 일반적으로 고체 기판에 화합물을 도입하기 위해서는 하기 참고도 1에 나타낸 바와 같이 한쪽 말단에는 고체 기판(1)과의 결합이 가능한 작용기(2a)가 형성되어 있고 다른 쪽 말단에는 고체 기판(1)에 도입하고자 하는 화합물과 결합이 가능한 작용기(2c)가 형성되어 있는 실란 화합물 또는 티올 화합물과 같은 화합물로 고체 기판에 자기조립박막을 형성하는 방법이 널리 이용되고 있다. 자기조립박막을 형성하는 과정에서 하기 참고도 1의 (2b)에 해당하는 분자몸통의 역할은 이들 사이에 존재하는 분자간 상호작용에 의해 형성되는 박막의 조밀도를 증가시키는 역할을 하며 상기 분자몸통(2b)가 가장 간단한 분자인 선형 알킬기인 경우 형성되는 박막에서 분자간 간격은 약 0.5nm 정도로 알려져 있다.

<9> [참고도 1]



<11> (1: 고체기판, 2a: 고체기판과의 결합을 위한 작용기, 2b: 분자몸통, 2c: 고체 기판에 고정하고자 하는 화합물과 결합 가능한 작용기)

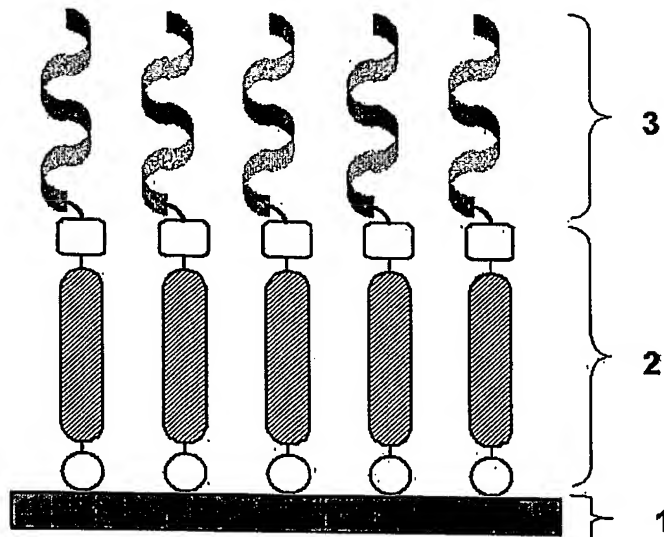
<12> 잘 알려진 바와 같이, 말단에 추가의 화학반응이 가능한 작용기를 가진 실란 화합물이나 티올 화합물은 특정한 고체 기판에 박막상으로 형성되면 DNA 또는 단백질을 포함한 생체 물질이나 고분자 또는 나노입자 등과 같은 단독으로는 고체 표면에 일정하게 고정시키기 어려운 화합종을 고체 표면에 쉽게 고정시킬 수 있어 최근 많은 연구가 진행되고 있다.

<13> 이러한 연구들 중에서, 특히 DNA 및 단백질을 포함한 생체물질의 검색 및 분석을 위한 바이오칩 기술은 빠른 시간 내에 많은 수의 생체물질의 상호작용을 검색할 수 있어 최근 들어 많은 연구가 진행되고 있으며, 감도와 선택성 등의 측면에서 성능이 우수한 바이오칩을 제조하기 위한 기술개발 경쟁이 치열하게 진행되고 있다.

<14> 바이오칩은 하기 참고도 2에 나타낸 바와 같이 실리콘 기판이나 유리기판과 같은 고체 기판(지지층), 그 고체기판 위에 DNA 또는 단백질 등과 화학결합 가능한 작용기를 말단에 갖는 분자층(이하, 접합층), 및 분석하고자 하는 물질과 선택적으로 상호작용할 수 있는 DNA(상보적 DNA) 혹은 단백질을 포함한 생체물질층(감지층) 으로 구성되어 있다. 이러한 바이오칩은 일반적으로 참고도 3의 (1)과 같이 패턴된 형태로 제조되고 그 후 일련의 과정(7)(8)을 거쳐 분석하고자 하는 물질을 감지할 수 있음은 주지의 사실이다.

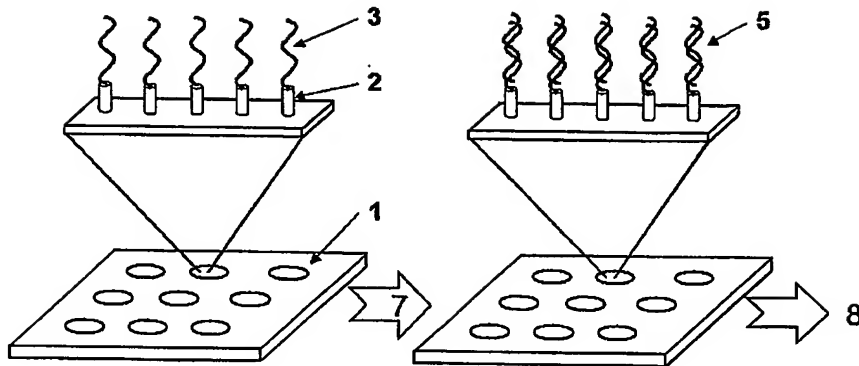
<15> [참고도 2]

<16>



<17> [참고도 3]

18>



19>

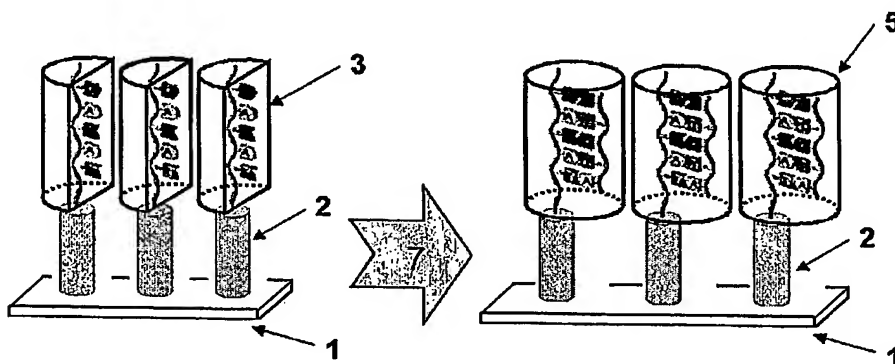
(1: 고체기판, 2: 접합층, 3: 감지층(DNA 단일사슬), 5: 혼성화된 DNA 이중나선, 7: 시료주입 및 DNA 혼성화, 8: 검출 단계)

20>

상기와 같은 바이오칩은 하기 참고도 4에 나타낸 바와 같이 바이오칩의 고체 기판에 고정된 DNA 또는 단백질과 같은 생체물질이 특정 표적 물질과 선택적인 상호작용을 함에 따라 그 구조나 부피가 변화하거나 특정한 3차원 구조를 선호하는 것 역시 주지의 사실이다. 특히 상기 바이오칩의 고체기판에 고정된 생체 물질이 DNA인 경우 감지층에 고정된 DNA 단일가닥의 단면의 최대 직경은 약 1nm 내외이지만 시료 중에 존재하는 표적 DNA와 혼성화되어 이중나선 구조를 형성하면 그 단면의 최대 직경은 약 2.2 nm 정도로 증가하게 된다.

21> [참고도 4]

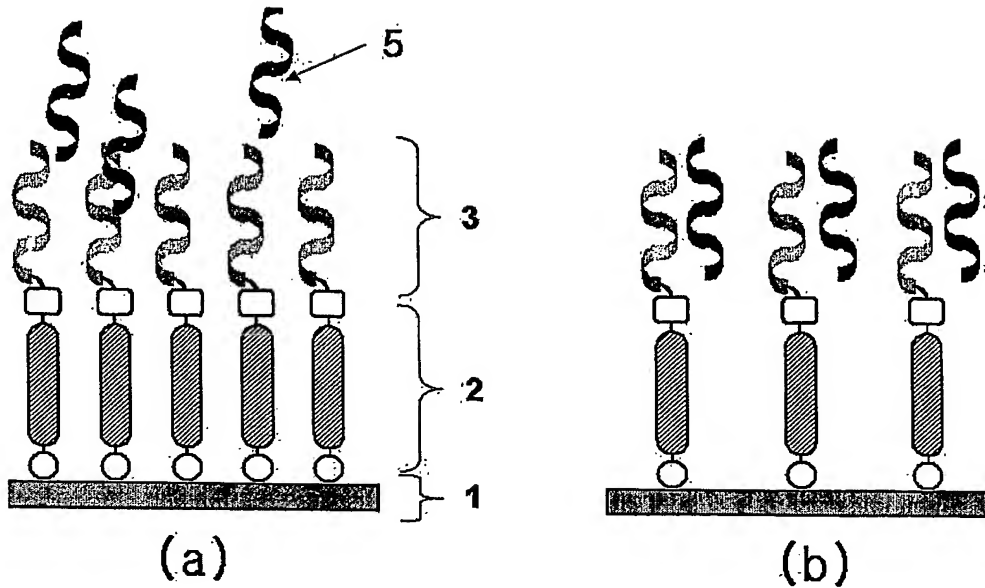
22>



- 23> (1: 고체기판, 2: 접합층, 3: 감지층(DNA 단일사슬), 6: 혼성화된 DNA 이중나선, 7: 시료주입 및 DNA 혼성화)
- 24> 현재까지 알려진 통상적인 DNA칩 제조공정으로는 상기 감지층으로서 고정되는 DNA 단일 가닥 간의 간격을 표적 DNA와의 혼성화 후의 크기변화를 고려하여 제조하는 것은 매우 어려운 일로 인식되고 있다. 만일 DNA 단일 가닥이 적절한 간격으로 고정되지 못하고 너무 조밀하게 형성되면, 이로 인한 입체적 장애 때문에 시료 중에 존재하는 표적 DNA가 감지층으로 들어가 고체 기판에 고정되어 있는 DNA와 혼성화되어 이중나선 구조를 형성하기 어렵게 되고, 너무 저 밀도로 형성되면 감도가 떨어지는 문제점이 있다.
- 25> DNA칩을 위주로 설명하였지만 DNA 칩 이외의 바이오칩에 있어서도 유사한 문제가 발생할 수 있으며, 상기와 같은 이유 때문에 높은 선택성과 감도를 갖는 바이오칩을 제조하기 위해서는 감지층을 구성하고 있는 생체 물질의 단일 면적당 농도를 증가시키는 것만으로는 선택성과 감도 문제를 동시에 해결할 수 없으며, 상기 생체 물질이 최적의 간격(즉, 감도를 크게 떨어뜨리지 않으면서 선택적인 상호작용을 할 수 있는 간격)을 유지하도록 감지층을 제조해야 할 필요가 있다.
- 26> 표적 DNA와 고체기판에 고정된 DNA가 혼성화하여 DNA 이중가닥을 형성하면 그 단면의 반지름이 약 2배정도 증가하기 때문에, 하기 참고도 5의 (a)에 나타난 바와 같이 DNA칩의 고체기판에 DNA를 너무 조밀하게 고정시키면 이후의 표적 DNA와의 혼성화 과정에서 입체적 장애가 발생하여 오히려 그 효율이 떨어지게 된다(하기 참고도 5의 (a)). 그러므로, 높은 선택성과 감도를 가진 DNA칩을 제조하기 위해서는 하기 참고도 5의 (b)와 같이 고체기판에 DNA를 고정시킬 때 이후의 혼성화 후의 구조 및 부피변화를 고려하여 조밀하면서도 특정한 간격이상으로 떨어져 있도록 감지층을 형성시켜야 한다.

27> [참고도 5]

28>



29> (1: 고체기판, 2: 접합층, 3: 감지층(DNA 단일사슬), 5: 표적 DNA)

30> 상기와 같이 감지과정에서 발생하는 고체 기판에 고정된 생체 물질의 구조적 변화에 따른 입체장애의 문제는 단지 DNA칩에서 만의 문제가 아니라, 고체 기판에 고정된 단백질의 크기가 표적 분자(선택적으로 결합하게 되는 상대분자)에 비해 충분히 크지 않은 경우에도 나타나는 문제들로서, 예를 들어 단백질칩에서 널리 사용되고 있는 바이오틴과 같은 작은 분자를 고체 기판위에 고정시키고 아비딘과 같은 거대 단백질분자와 결합하는 경우에도 나타나는 문제이다. 뿐만 아니라, 상기 DNA칩 및 단백질칩과 같은 바이오칩 이외에도 고체기판에 고정된 화학 물질이 표적 물질과 결합되는 모든 칩에서도 발생 가능한 문제이다.

31> 상기와 같은 문제점을 해결하기 위한 가장 바람직한 방법은 고체기판 위에 형성하는 접합층의 밀도를 적절하게 조절함으로써 그 위에 형성되는 감지층의 DNA나 단백질 등의 상호간 간격을 조절하는 것이다.

- 32> 접합층의 밀도를 조절하는 가장 일반적인 방법으로는 접합층을 형성하는 단계에서 농도나 형성시간을 조절함으로써 접합층의 밀도를 조절하는 것이 있다. 타로브 등은 접합층 형성시 자기조립박막(접합층에 해당) 물질의 농도를 조절하여 화학종 사이의 거리를 변화시킨 연구 결과를 보고하였다(J. Am. Chem. Soc. 1998, 120, 9787). 그러나, 이러한 방법을 이용하면 균일한 밀도로 분포된 접합층을 얻을 수 없기 때문에, 그 위에 형성되는 DNA 사이의 거리를 원하는 정도로 제어 할 수 없는 문제점이 있다. 최근에는 Georgiadis 등이 동일한 방법으로 화학종 사이의 거리를 조절한 후 DNA의 혼성화 정도를 측정하는 정량적인 연구를 수행하였지만 상기 문제점을 해결하지는 못했다(J. Am. Chem. Soc. 2002, 124, 14601).
- 33> 최근 박준원 외 공동연구자들은 삼각뿔 형태의 덴드론 분자를 이용하여 감지층으로서 고정되는 화합물 사이의 간격을 조절하는 방법을 보고하였다(한국특허 2002-0019325; Langmuir 19, 2003년, 2357쪽). 이 방법은 분자의 하단은 10개의 카르복실산이 분자의 상단은 한 개의 아민기만이 붙어 있는 덴드론 분자를 사용하였는데, 이러한 덴드론 분자를 아미노실란 화합물로 처리된 고체 기판 위에 처리하면 고체 기판 표면의 아민과 덴드론 분자 하단의 카르복실산이 수소결합을 이루어 덴드론 분자가 고체 기판에 고정되고, 덴드론 분자의 상단에 존재하는 아민 작용기 사이의 거리가 덴드론 분자의 크기만큼 일정간격으로 떨어지게 된다고 보고하였다. 하지만 이러한 덴드론 분자는 구조적으로 견고하지 않기 때문에, 덴드론 분자들의 구조적 변형, 즉 단일 결합의 회전에 의한 구부러짐 또는 접힘 등이 일어남에 따라 아민 작용기 사이 간격의 감소가 일어날 수 있을 뿐만 아니라, 덴드론 분자들이 겹쳐짐에 따라 아민 작용기 사이의 간격 감소 등이 발생할 수 있다. 따라서, 이러한 방법 역시 상기 종래 방법의 단점을 완전하게 제거할 수 없다. 또한 이 방법에서 제공하는 덴드론은 많은 수의 작용기를 포함할 수 밖

에 없기 때문에, DNA칩이나 단백질칩의 성능을 크게 저해하는 비특이적 결합(nonspecific binding)을 할 가능성이 높다는 단점을 가지고 있다.

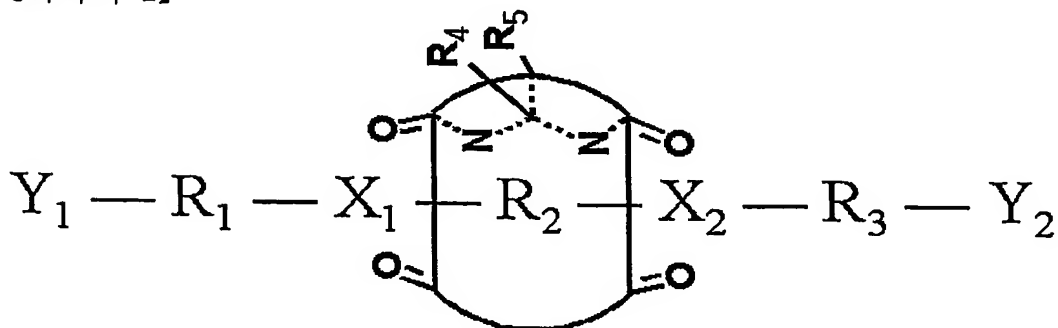
【발명이 이루고자 하는 기술적 과제】

- 34> 본 발명의 목적은 고체 기판에 일정한 간격으로 접합층을 형성시키기 위한 로텍산 화합물을 제공하는 것이다.
- 35> 본 발명의 또 다른 목적은 상기 로텍산 화합물이 고정된 고체 기판을 제공하는 것이다.
- 36> 본 발명의 또 다른 목적은 상기 로텍산 화합물이 고정된 고체 기판을 채택하여 얻어지는 것을 특징으로 하는 유전자칩 또는 단백질칩을 제공하는 것이다.
- 37> 본 발명의 또 다른 목적은 상기 로텍산 화합물이 고정된 고체 기판을 채택하여 얻어지는 것을 특징으로 하는 생체분석용 센서를 제공하는 것이다.

【발명의 구성 및 작용】

- 38> 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은
- 39> 하기 화학식 2의 쿠커비투릴 또는 그 유도체의 내부 공동(cavity)에 하기 화학식 3의 화합물이 수직으로 관통된 하기 화학식 1의 화합물을 제공한다.

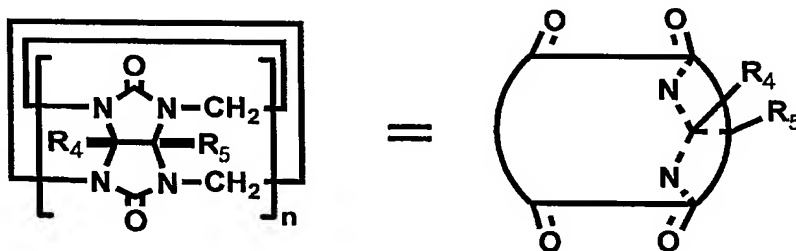
40> 【화학식 1】



- 41> (상기 화학식 1에서, R_1 , R_2 , 및 R_3 는 각각 독립적으로 C_2-C_{10} 선형 포화 또는 불포화 알킬렌, 에틸렌글리콜 올리고머, 1,4-치환 벤젠, 또는 1,4-치환 피리딘이고; X_1 및 X_2 는 각각 독립적으로 화학식 2의 쿠커비투릴 또는 그 유도체의 산소원자와 이온-쌍극자 상호작용을 할 수 있는 양전하를 갖는 작용기이고, Y_1 은 유전자 또는 단백질을 포함한 생체물질과 결합 가능한 작용기이며, Y_2 는 고체 기판과 결합 가능한 작용기이다)

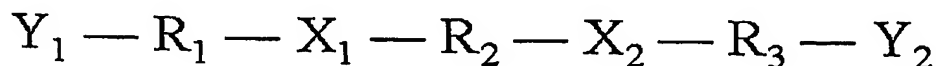
42> 【화학식 2】

43>



- 44> (상기 화학식 2에서, n 은 4 내지 20의 정수이고, R_4 및 R_5 는 각각 독립적으로 수소, 치환 또는 비치환된 C_1-C_{20} 알킬기를 가지며 말단이 불포화결합인 알케닐옥시기, 치환 또는 비치환된 C_1-C_{20} 알킬기를 갖는 카르복시알킬설피드옥시기, 치환 또는 비치환된 C_2-C_8 알킬기를 갖는 카르복시알킬옥시기, 치환 또는 비치환된 C_2-C_8 알킬기를 갖는 아미노알킬옥시기, 또는 치환 또는 비치환된 C_2-C_8 알킬기를 갖는 히드록시알킬옥시기이다)

45> 【화학식 3】



- 46> (상기 화학식 3에서, R_1 , R_2 , R_3 , X_1 , X_2 , Y_1 , 및 Y_2 는 상기 화학식 1에서 정의된 바와 같다)

- 47> 상기 화학식 1의 로텍산 화합물은

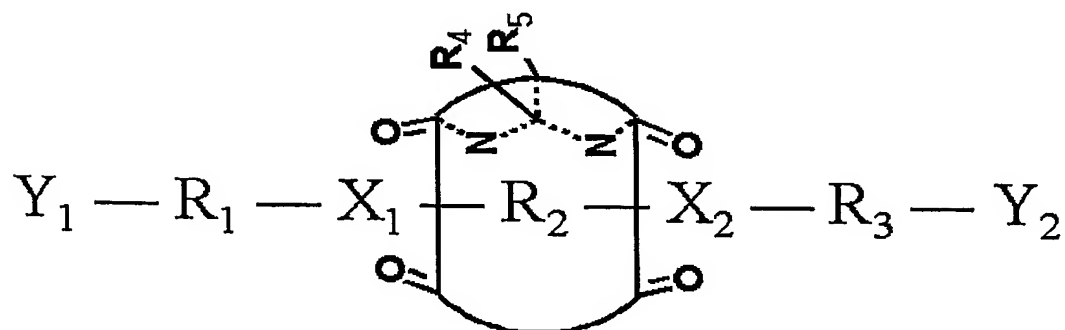
- 48> X1 및 X2는 각각 독립적으로 이차 암모늄, 1,4-치환 피리디늄, 또는 벤질 암모늄이며;
- 49> Y₁ 및 Y₂는 각각 독립적으로 1차 아민기, 아마이드기, 아크릴아민기, 알킬에스테르기, 알데히드기, 카르복시기, 알콕시실란기, 아실할로젠화기, 히드록시기, 티올기, 할로젠기, 시안기, 이소시아니드 또는 이소티오시아니드인 것을 특징으로 하는 상기 화학식 1의 로텍산 화합물이 더욱 바람직하다.
- 50> 본 발명은 또한 상기 화학식 1의 화합물이 고체기판에 공유결합 또는 비공유결합된 고체기판을 제공한다.
- 51> 상기 화학식 1의 화합물은 0.05 내지 0.6개/nm²의 밀도로 상기 고체 기판에 결합될 수 있다.
- 52> 상기 화학식 1의 로텍산 화합물이 공유결합된 고체 기판은 그 고체 기판이 유리, 실리콘 웨이퍼, ITO 유리, 산화알루미늄, 또는 이산화티탄으로 이루어 질 수 있다.
- 53> 본 발명의 또 다른 목적을 달성하기 위해, 본 발명은 상기 화학식 1의 화합물이 공유결합된 고체 기판을 포함하는 유전자칩을 제공한다.
- 54> 본 발명은 또한 상기 화학식 1의 화합물이 공유결합된 고체 기판을 포함하는 단백질칩을 제공한다.
- 55> 상기 유전자칩과 단백질칩 이외에도 본 발명은 상기 화학식 1의 화합물이 공유결합된 고체 기판을 포함하는 생체물질 분석용 센서를 제공한다.
- 56> 이하, 본 발명을 상세히 설명한다.
- 57> 본 발명은 상기 바이오칩의 고체 기판 상에 접합층을 구성하는 분자를 일정한 간격으로 형성시키기 위하여 로텍산 화합물을 사용한다. 로텍산 화합물이란 단단한 고리형 화합물인 쿠

커비투릴이 긴 사슬형 화합물에 켜어져 만들어지는 화합물을 말한다. 이러한 로텍산 화합물을 접합층에 도입하면, 이웃하는 사슬형 화합물 사이의 거리가 쿠커비투릴의 직경 이상으로 유지될 수 있다. 이러한 원리에 의하여, 고체 기판 상에 로텍산 화합물로 구성된 접합층을 형성시키면 접합층을 구성하는 분자가 일정한 간격으로 배열될 수 있다. 이와 같은 원리를 도 1에 도식적으로 표현하였다.

58> 상기와 같은 목적을 위해 본 발명에서는, 하기 화학식 2의 쿠커비투릴 또는 그 유도체가 하기 화학식 3의 화합물에 켜어진 하기 화학식 1의 로텍산 화합물을 사용하였다.

59> [화학식 1]

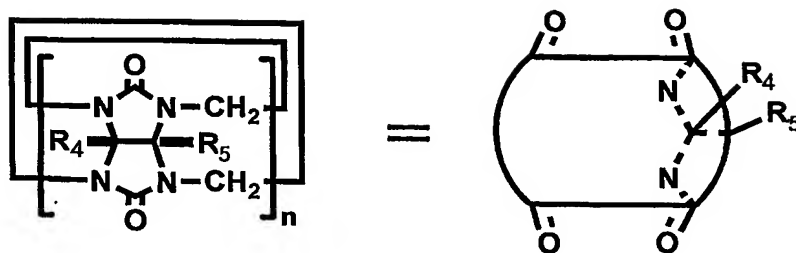
30>



31> (상기 화학식 1에서, R_1 , R_2 , 및 R_3 는 각각 독립적으로 C_2-C_{10} 선형 포화 또는 불포화 알킬렌, 에틸렌글리콜 올리고머, 1,4-치환 벤젠, 또는 1,4-치환 피리딘이고; X_1 및 X_2 는 각각 독립적으로 화학식 2의 쿠커비투릴 또는 그 유도체의 산소원자와 이온-다이폴 상호작용을 할 수 있는 양전하를 갖는 작용기이고, Y_1 은 유전자 또는 단백질을 포함한 생체물질과 결합 가능한 작용기이며, Y_2 는 고체 기판과 결합 가능한 작용기이다)

32> [화학식 2]

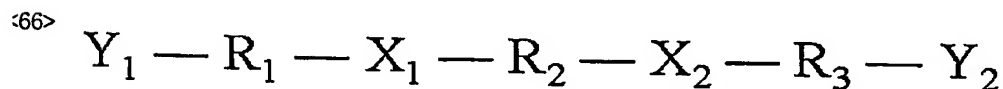
<63>



<64>

(상기 화학식 2에서, n 은 4 내지 20의 정수이고, R_4 및 R_5 는 각각 독립적으로 수소, 치환 또는 비치환된 C_1 - C_{20} 알킬기를 가지며 말단이 불포화결합인 알케닐옥시기, 치환 또는 비치환된 C_1 - C_{20} 알킬기를 갖는 카르복시알킬설피드옥시기, 치환 또는 비치환된 C_2 - C_8 알킬기를 갖는 카르복시알킬옥시기, 치환 또는 비치환된 C_2 - C_8 알킬기를 갖는 아미노알킬옥시기, 또는 치환 또는 비치환된 C_2 - C_8 알킬기를 갖는 히드록시알킬옥시기이다)

<65> [화학식 3]



<67>

(상기 화학식 3에서, R_1 , R_2 , R_3 , X_1 , X_2 , Y_1 , 및 Y_2 는 상기 화학식 1에서 정의된 바와 같다)

<68>

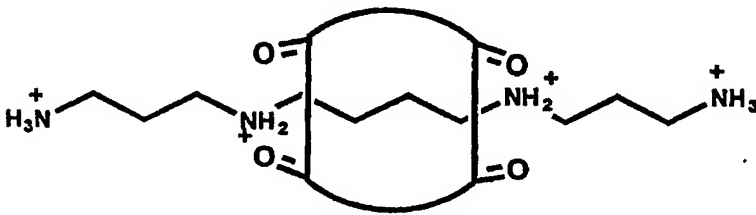
상기 화학식 2의 화합물을 합성하기 위한 원료인 히드록시쿠커비투릴과 그 모체인 쿠커비투릴은 본 출원인들에 의해 출원된 한국특허출원 02-68362호, 02-318호, 01-57573호, 01-39756호, 및 00-33026호에 그 구체적인 화합물의 구조 및 합성방법이 개시되어 있으며, 본 명세서에 그 전체적인 내용이 통합되어 있다.

<69>

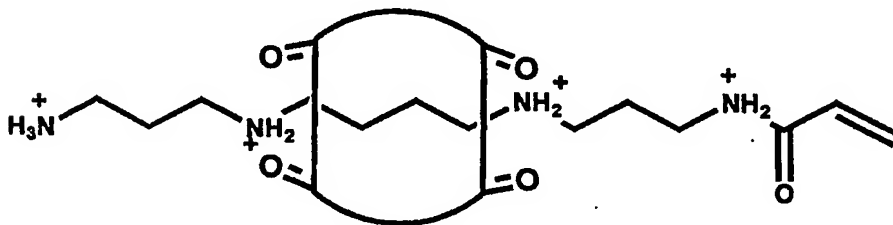
상기 화학식 3의 화합물은 화학식 1의 로텍산 유도체가 짝어질 수 있는 동시에 고체 기질에 고정될 수도 있으며 또한 DNA나 단백질을 포함한 생체물질이나 센서를 제공하기 위해 필요한 감지물질의 고정화도 가능한 작용기를 양 말단에 가지고 있는 것을 특징으로 한다.

- 70> 상기 화학식 1의 로텍산 화합물은
- 71> X_1 및 X_2 는 각각 독립적으로 이차 암모늄, 1,4-치환 피리디늄, 또는 벤질 암모늄이며;
- 72> Y_1 및 Y_2 는 각각 독립적으로 1차 아민기, 아마이드기, 아크릴아민기, 알킬에스테르기, 알데히드기, 카르복시기, 알콕시실란기, 아실할로젠화기, 히드록시기, 티올기, 할로젠기, 시안기, 이소시아나기 또는 이소티오시아나기인 것을 특징으로 하는 로텍산 화합물일 수 있다.
- 73> 상기 화학식 1의 로텍산 화합물은 하기 화학식 5 내지 13의 화합물로부터 선택된 것이 바람직하다.

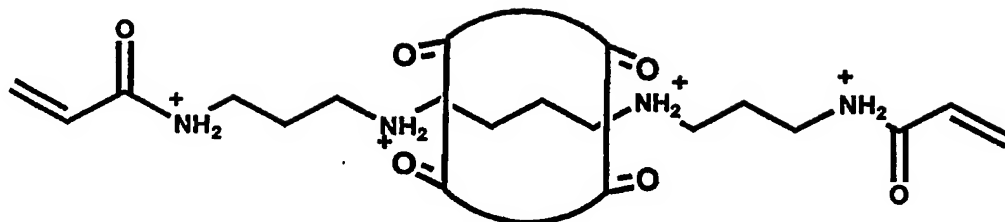
74> 【화학식 5】



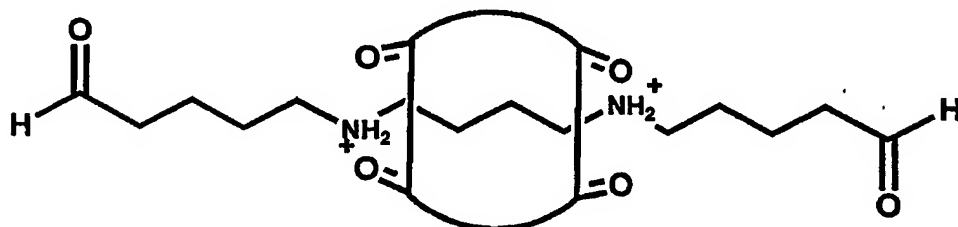
75> 【화학식 6】



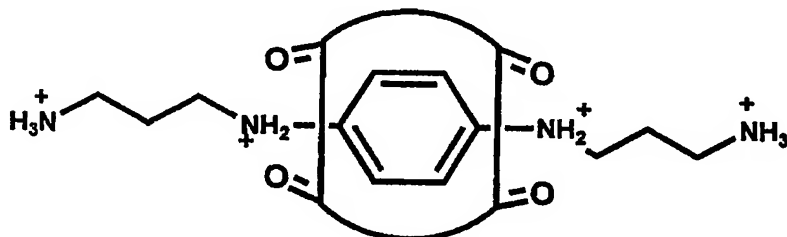
76> 【화학식 7】



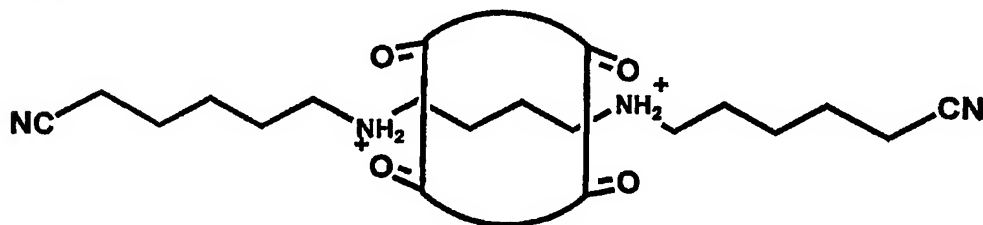
77> 【화학식 8】



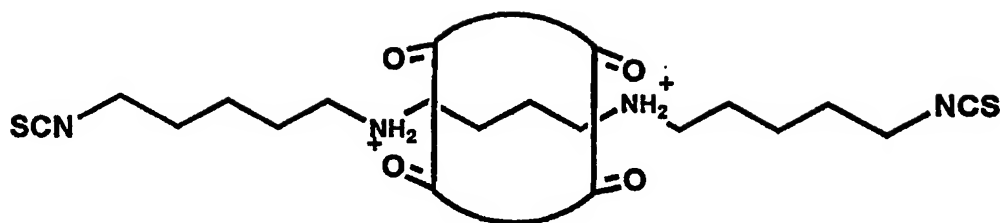
78> 【화학식 9】



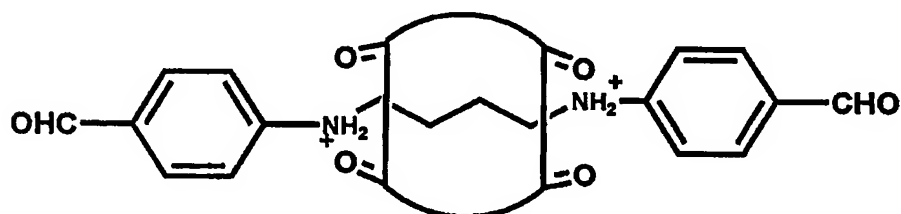
79> 【화학식 10】



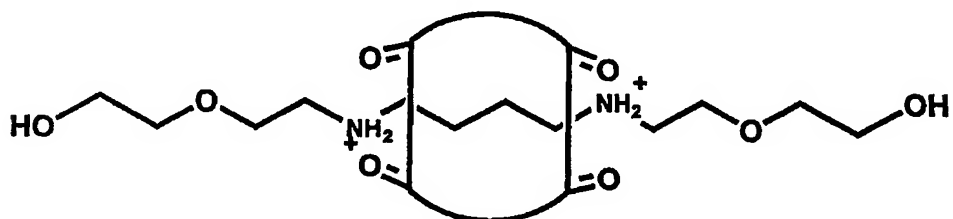
30> 【화학식 11】



31> 【화학식 12】



32> 【화학식 13】



33> 상기 화학식 1의 로텍산 화합물은 다음과 같은 방법에 의해 제조될 수 있다.

34> 먼저, 당해 기술분야에 공지되어 있는 일반적인 유기 합성방법으로 합성된 화학식 3의 화합물과 본 출원인들이 출원한 한국특허출원 02-68362호, 02-318호, 01-57573호, 01-39756호, 또는 00-33026호 등에 개시되어 있는 방법에 의거해 합성된 화학식 2의 화합물을 물, 디메틸포름아미드, 또는 디메틸설폭시드에 넣고 녹이면 화학식 2의 화합물과 화학식 3의 화합물이 자기 조립에 의해 화학식 1의 화합물로 제조된다.

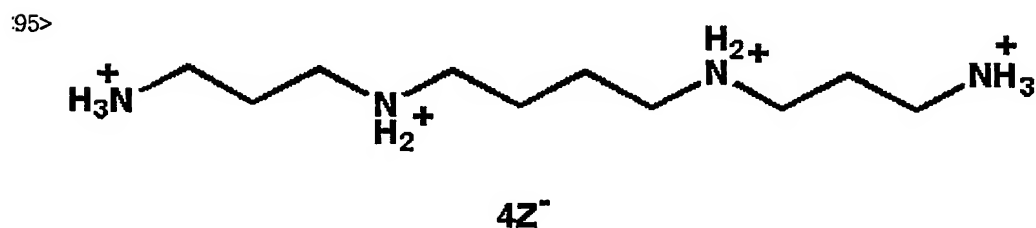
- 35> 상기 화학식 1의 로텍산 화합물은 다양한 말단기를 갖는 변형된 고체기판에 공유결합되어 목적하는 고체 기판을 형성할 수 있다.
- 36> 상기 고체 기판에 결합되는 화학식 1의 화합물은 0.05 내지 0.5개/nm²의 밀도로 결합될 수 있으며, 상기 고체 기판으로는 유리, 실리콘 웨이퍼, ITO 유리, 산화알루미늄, 또는 이산화티탄 기판을 사용할 수 있다.
- 37> 상기 화학식 4의 변형된 고체 기판에 화학식 1의 로텍산 화합물이 공유결합된 고체 기판은 접합층을 구성하는 분자가 일정한 간격으로 배열될 수 있으며, 도입된 상기 화학식 1의 화합물을 구성하는 화학식 2의 쿠퍼비투릴 또는 그 유도체가 무엇인지에 따라 접합층을 구성하는 분자 사이의 간격이 결정된다.
- 38> 상기 화학식 1의 로텍산 화합물이 공유결합된 고체 기판을 채택하여 유전자칩을 제조할 수 있다.
- 39> 또한, 상기 화학식 1의 로텍산 화합물이 공유결합된 고체 기판은 단백질칩과 생체물질 분석용 센서의 제조에 사용될 수 있다.
- 30> 화학식 1의 로텍산 화합물이 공유결합된 고체 기판을 이용하여 제조된 상기 유전자칩, 단백질칩, 및 생체물질 분석용 센서는 상기 고체기판이 일정한 간격으로 형성된 접합층을 갖기 때문에 그 위에 고정되는 유전자, 단백질 등의 생체물질 또한 일정한 간격을 갖도록 형성될 수 있다. 또한, 상기 바이오칩 등의 제조에 이용되는 고체기판의 접합층에 사용된 화학식 1의 로텍산 화합물은 이후에 접합층 상에 결합될 생체물질과 수소결합과 같은 비특이적 결합을 이룰 수 있는 관능기의 수가 적기 때문에 기존의 방법에 비해서 또한 유리하다고 할 수 있다.

91> 이하, 실시예를 통하여 본 발명을 더욱 상세히 설명하기로 한다. 이들 실시예는 단지 본 발명을 예시하기 위한 것이므로, 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의해 제한되지는 않는다.

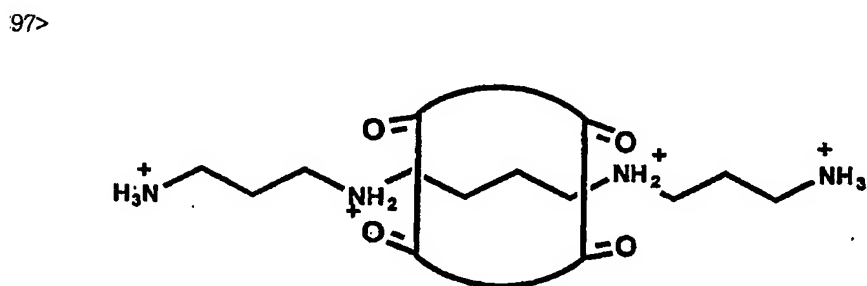
92> 실시예 1 : 로텍산 화합물의 제조(1)

93> 하기 화학식 4의 스퍼민 사염산 180mg(0.5mmol)을 물 10ml에 녹인 후 쿠커비투릴(CB[6]) 500mg(0.5mmol)을 가했다. 이것을 멤브레인 필터로 한 번 여과한 여액에 암모늄 헥사플루오로 포스페이트 340mg(2mmol)을 가한 다음 떨어지는 침전물을 멤브레인 필터로 거른 후 건조시켜 화학식 5의 화합물을 얻었다.

94> 【화학식 4】



96> 【화학식 5】



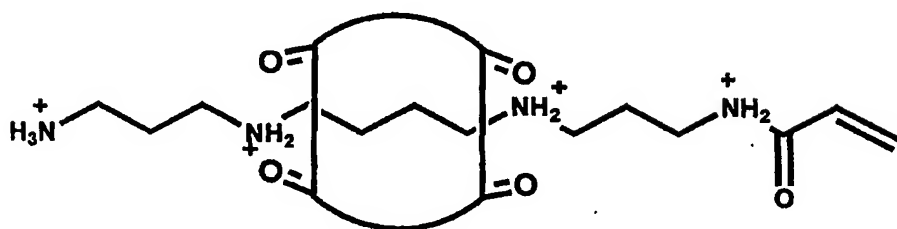
98> 실시예 2 : 로텍산 화합물의 제조(2)

99> 화학식 5의 화합물 1.03g(0.58mmol)을 디메틸포름아미드 50ml에 녹인 후 아크릴로일 클로라이드 395ml(4.62mmol)와 트리에틸아민 348ml(2.32mmol)를 가한 후 교반하였다. 반응이 완

료된 후 테트라부틸암모늄 클로라이드 포화 수용액을 가한 다음 떨어지는 침전을 멤브레인 필터로 거른 후 건조시켜 화학식 6의 화합물을 얻었다.

00> [화학식 6]

01>

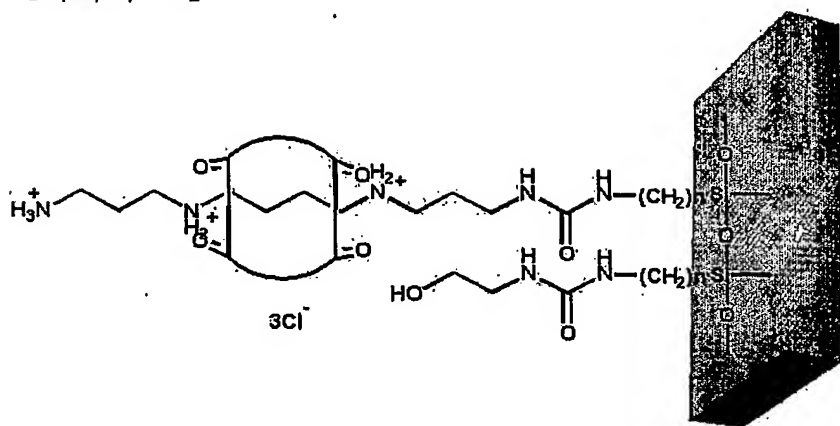


02> 실시예 3 : 고체 기판의 제조 및 도입된 아민 작용기의 밀도 측정

03> 피라나 용액(황산:과산화수소=3:1)으로 유리 기판을 세척하여 표면에 히드록실기를 도입하였다. 질소 환경 하에서 10ml 바이알에 상기 유리 기판을 넣고, (3-이소시아노프로필)트리에톡시실란의 톨루엔 용액(10mM)을 넣은 후 상온에서 보관하여 실란화 과정을 수행하였다.

04> 실란화 과정이 완료된 후 유리 기판을 톨루엔으로 세척하고, 진공 건조 한 후, 상기 실시예 1에서 제조한 화학식 5의 화합물을 디메틸포름아미드에 녹인 용액과 트리에틸아민 4당량을 추가한 후 상온, 질소 환경 하에서 교반하였다. 이후 유리기판을 무수 디메틸포름아미드로 깨끗이 세척한 후 에탄올아민을 무수 디메틸포름아미드에 녹인 용액에 담가 남아있는 이소시아나실란의 반응성을 제거하고, 묽은 염산으로 세척하여 화학식 14의 고체기판을 얻었다.

05> 【화학식 14】



06> 상기 실시예 3에서 제조한 유리 고체 기판에 형성되어 있는 아민 작용기 밀도를 측정하기 위하여 9-안트라데히드(9-anthraldehyde)를 사용하여 형광으로 측정하였다. 이때 9-안트라데히드의 크기는 화학식 1의 CB[6]보다 작기 때문에 밀도 측정을 위해서 사용할 수 있다 (Langmuir, 19, 2003년, 2357쪽)

07> 측정 결과, 실시예 3에서 제조한 유리 고체 기판의 표면에 형성된 아민 작용기의 표면 밀도는 0.1 아민/nm²으로 나타났다.

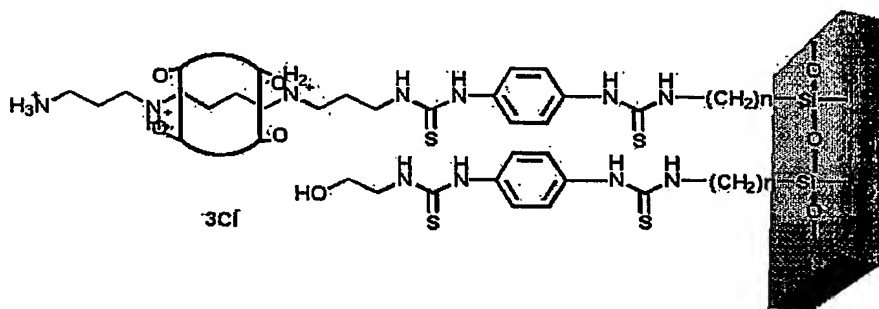
08> 실시예 4: 고체 기판의 제조 및 도입된 아민 작용기의 밀도 측정

09> 피라나 용액으로 유리 기판을 세척하여 표면에 히드록실기를 도입하였다. 질소 환경 하에서 10ml 바이알에 유리 기판을 넣고, (3-아미노프로필)트리에톡시실란의 톨루엔 용액(10mM)을 넣은 후 상온에서 보관하였다.

10> 실란화 과정이 완료된 후 유리 기판을 톨루엔으로 세척하고, 감압된 상태에서 1 시간 동안 120도씨로 가열하였다. 상기 유리 기판을 냉각시킨 후 1,4-디이소티오시안화페닐을 무수 디메틸포름아미드에 녹인 용액에 담근 후 상온, 질소 환경 하에서 교반하였다.

- 11> 상기 유리 기판을 깨끗이 세척한 후 상기 실시예 1에서 제조한 화학식 3의 화합물을 무수 디메틸포름아미드에 녹인 용액과 트리에틸아민 4 당량을 추가한 후 상온, 질소 환경 하에서 교반하였다. 이후 유리기판을 무수 디메틸포름아미드로 깨끗이 세척한 후 에탄올아민을 무수 디메틸포름아미드에 녹인 용액에 담가 남아있는 이소티오시안실란의 반응성을 제거하고 묽은 염산으로 세척하여 하기 화학식 15의 기판을 얻었다.

12> 【화학식 15】



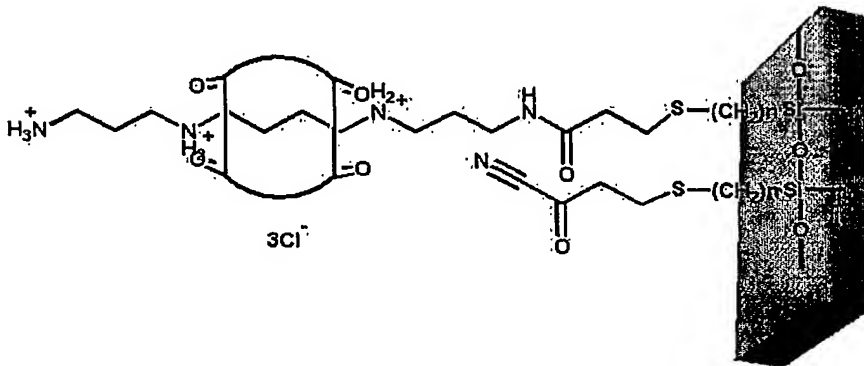
- 13> 상기 제조한 하기 화학식 15의 기판에 형성되어 있는 아민 작용기 밀도를 상기 실시예 3에서 측정한 방법과 동일한 방법을 사용하여 측정하였다.
- 14> 측정 결과, 상기 유리 고체 기판의 표면에 형성된 아민 작용기의 표면 밀도는 0.1 아민/nm²으로 나타났다.

15> 실시예 5: 고체 기판의 제조 및 도입된 아민 작용기의 밀도 측정

- 16> 피라나 용액으로 유리 기판을 세척하여 표면에 히드록실기를 도입하였다. 질소 환경 하에서 10ml 바이알에 유리 기판을 넣고, (3-티올프로필)트리에톡시실란의 톨루엔 용액(10mM)을 넣은 후 상온에서 보관하였다.
- 17> 실란화 과정이 완료된 후 유리 기판을 깨끗이 세척한 다음 상기 실시예 2에서 제조한 화학식 6의 화합물의 수용액에 가한 후 상온에서 교반하였다. 이후 유리기판을 증류수로 깨끗이

세척한 후 아크릴로니트릴을 디메틸포름아미드에 녹인 용액에 담가 반응성을 제거하고 디메틸포름아미드와 메탄올로 세척하여 화학식 16의 기판을 얻었다.

18> 【화학식 16】



19> 상기 유리 기판에 생성된 아민 작용기의 밀도를 상기 실시예 3에서 측정한 방법과 동일한 방법으로 측정하였다. 그 결과, 아민 작용기의 표면 밀도는 약 0.1 아민/nm²로 나타났다.

20> 상기 실시예 3 내지 5에서 제조된 고체 기판의 아민기의 밀도 측정 결과에 따르면 아민기의 밀도는 아미노실란화된 유리 기판에 비해 많이 줄어든 것을 알 수 있었으며, 이중가닥 DNA의 지름이 약 2nm인 것을 감안하면 DNA 하나 당 0.4개의 아민이 대응되므로 DNA의 혼성화 때 입체 장애가 문제가 되지 않을 것임을 알 수 있다. 또한 Georgiadis 등이 보고한 방법을 이용하였을 경우 고체 기판에 도입된 아민 작용기의 밀도가 약 0.01 아민/nm²이므로, 약 10배 정도로 집적도가 높아 검출시 분석감도가 더 좋을 것임을 예상할 수 있다.

【발명의 효과】

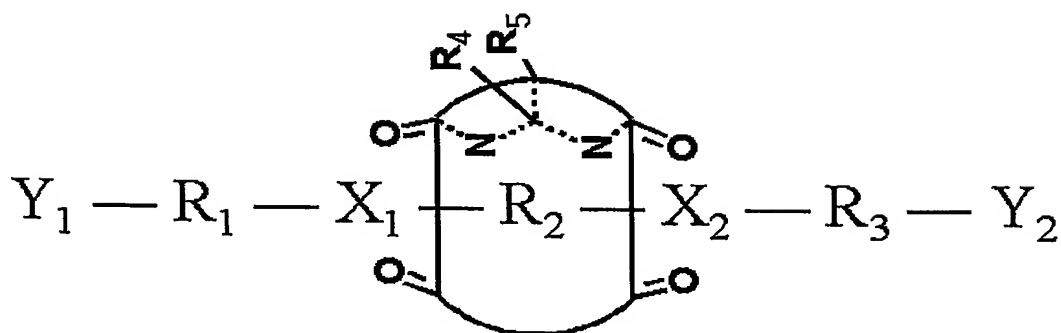
21> 상기한 바와 같이, 본 발명에서 제공하는 로텍산 화합물을 사용하면 고체 기판의 표면에 일정한 간격을 갖는 접합층을 형성시킬 수 있으며, 이러한 고체 기판을 이용하여 선택성과 감도를 모두 만족시킬 수 있는 바이오칩 등을 제조할 수 있다.

【특허청구범위】

【청구항 1】

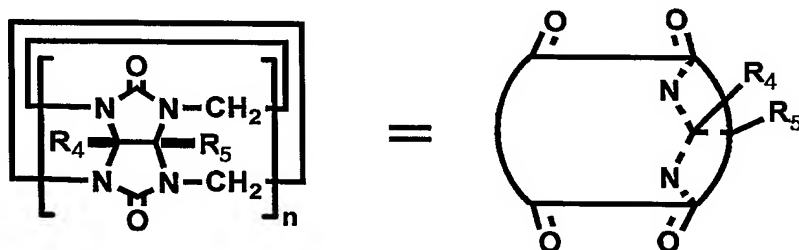
하기 화학식 2의 쿠커비투릴 또는 그 유도체의 내부 공동(cavity)에 하기 화학식 3의 화합물이 수직으로 관통된 하기 화학식 1의 화합물.

[화학식 1]



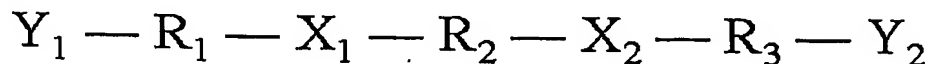
(상기 화학식 1에서, R₁, R₂, 및 R₃는 각각 독립적으로 C₂-C₁₀ 선형 포화 또는 불포화 알킬렌, 에틸렌글리콜 올리고머, 1,4-치환 벤젠, 또는 1,4-치환 피리딘이고; X₁ 및 X₂는 각각 독립적으로 화학식 2의 쿠커비투릴 또는 그 유도체의 산소원자와 이온-다이폴 상호작용을 할 수 있는 양전하를 갖는 작용기이고, Y₁은 유전자 또는 단백질을 포함한 생체물질과 결합 가능한 작용기이며, Y₂는 고체 기판과 결합 가능한 작용기이다)

[화학식 2]



(상기 화학식 2에서, n 은 4 내지 20의 정수이고, R_4 및 R_5 는 각각 독립적으로 수소, 치환 또는 비치환된 C_1-C_{20} 알킬기를 가지며 말단이 불포화결합인 알케닐옥시기, 치환 또는 비치환된 C_1-C_{20} 알킬기를 갖는 카르복시알킬설피드옥시기, 치환 또는 비치환된 C_2-C_8 알킬기를 갖는 카르복시알킬옥시기, 치환 또는 비치환된 C_2-C_8 알킬기를 갖는 아미노알킬옥시기, 또는 치환 또는 비치환된 C_2-C_8 알킬기를 갖는 히드록시알킬옥시기이다)

[화학식 3]



(상기 화학식 3에서, R_1 , R_2 , R_3 , X_1 , X_2 , Y_1 , 및 Y_2 는 상기 화학식 1에서 정의된 바와 같다)

【청구항 2】

제1항에 있어서,

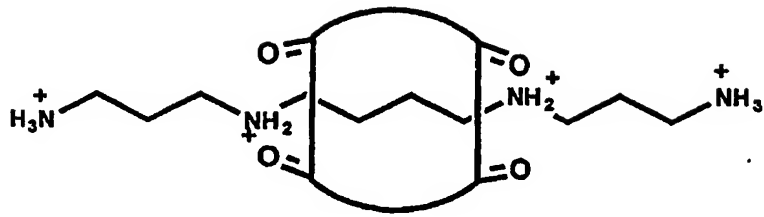
X_1 및 X_2 는 각각 독립적으로 이차 암모늄, 1,4-치환 피리디늄, 또는 벤질 암모늄이며;

Y_1 및 Y_2 는 각각 독립적으로 1차 아민기, 아미드기, 아크릴아민기, 알킬에스테르기, 알데히드기, 카르복시기, 알콕시실란기, 아실할로젠화기, 히드록시기, 티올기, 할로젠기, 시안기, 이소시안기 또는 이소티오시안기인 것을 특징으로 하는 상기 화학식 1의 화합물.

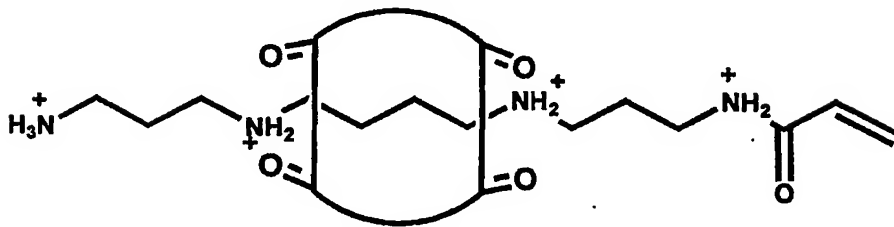
【청구항 3】

제 1 항에 있어서, 하기 화학식 5 내지 10의 화합물로 구성된 군에서 선택된 것을 특징으로 하는 상기 화학식 1의 화합물.

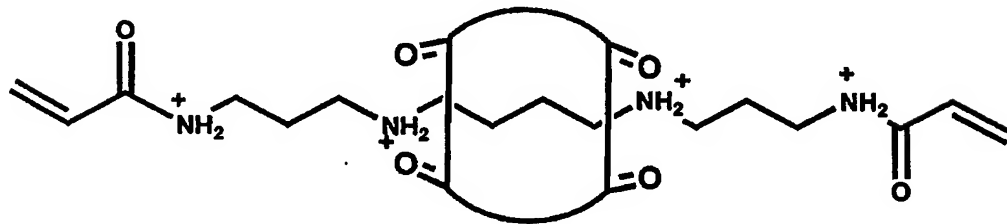
[화학식 5]



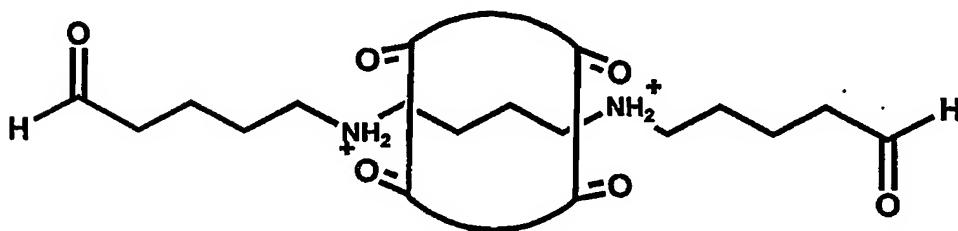
[화학식 6]



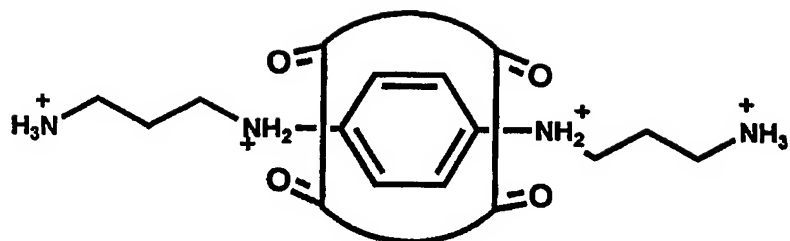
[화학식 7]



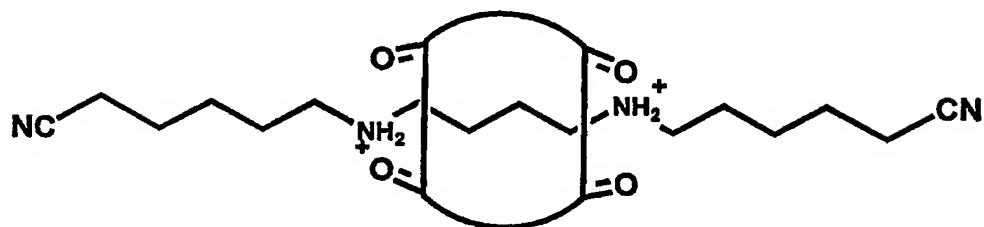
[화학식 8]



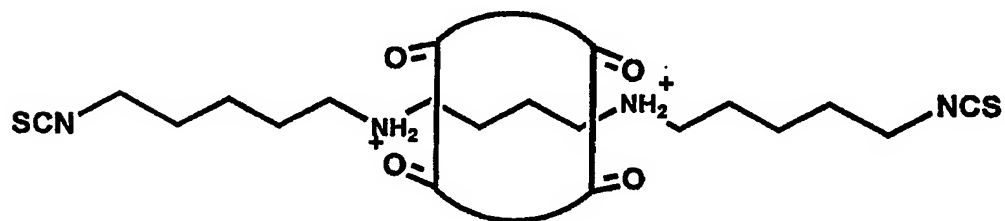
[화학식 9]



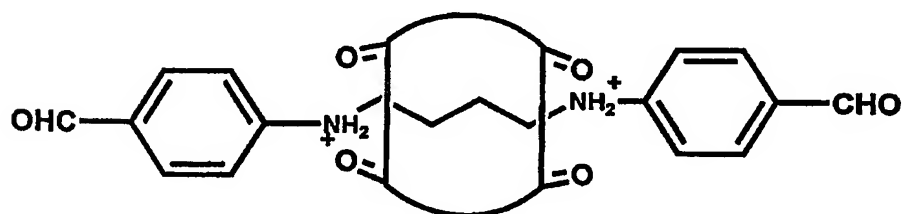
[화학식 10]



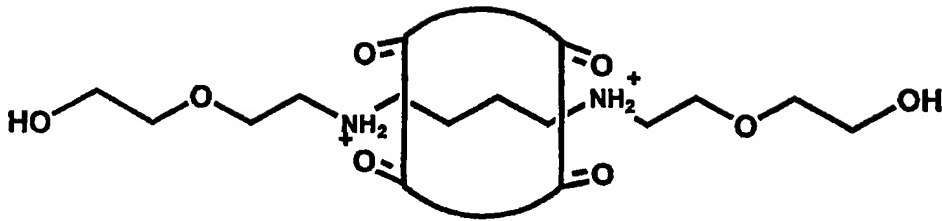
[화학식 11]



[화학식 12]



[화학식 13]



【청구항 4】

제1항의 화학식 1의 화합물이 공유결합 또는 비공유결합된 고체 기판.

【청구항 5】

제4항에 있어서, 상기 화학식 1의 화합물이 0.05 내지 0.6개/ nm^2 의 밀도로 결합되어 있는 것을 특징으로 하는 고체 기판.

【청구항 6】

제4항에 있어서, 상기 고체 기판은 유리, 실리콘 웨이퍼, ITO 유리, 산화알루미늄, 또는 이산화티탄 기판인 것을 특징으로 하는 고체 기판.

【청구항 7】

제4항 내지 제6항 중 어느 한 항의 고체 기판을 포함하는 유전자칩.

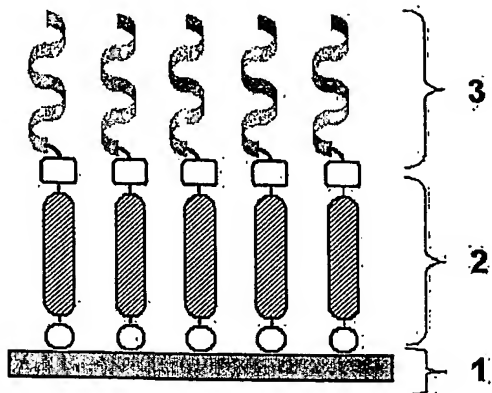
【청구항 8】

제4항 내지 제6항 중 어느 한 항의 고체 기판을 포함하는 단백질칩.

【청구항 9】

제4항 내지 제6항 중 어느 한 항의 고체 기판을 포함하는 생체물질 분석용 센서.

【도 1】



【도면】

